Aus der Hals-, Nasen-, Ohren-Universitätsklinik zu Marburg
Direktor: Professor Dr. med. J. Berendes

Aktivitätsbestimmungen unspezifischer Phosphomonoesterasen in Gaumenmandeln, Rachenmandeln und Halslymphknoten vom Menschen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Adolf Schifferer
aus Budapest

Marburg 1968

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Hals-, Nasen-, Ohren-Universitätsklinik zu Marburg
Direktor: Professor Dr. med. J. Berendes

Aktivitätsbestimmungen unspezifischer Phosphomonoesterasen in Gaumenmandeln, Rachenmandeln und Halslymphknoten vom Menschen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Adolf Schifferer

aus Budapest

Marburg 1968

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Marburg am: 18. 6. 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert

Referent: Doz. Dr. med. H. Ganz

Correferent: Prof. Dr. med. J. Berendes

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung..... 1

Methodik..... 7

Versuchsergebnisse:

1.) Vorversuche..... 13

2.) Hauptversuchserien..... 17

Diskussion der Versuchsergebnisse..... 42

Zusammenfassung..... 50

Literaturverzeichnis..... 51

Einleitung

a) Vorkommen und Aufgaben unspezifischer Phosphomonoesterasen:

Eine japanische Forschergruppe unter SUZUKI wies 1907 zum ersten Mal ein Enzym nach, das im alkalischen Milieu Inositol-Hexosephosphat spaltet. Inosit ist eine zyklische Hexose, die sich hauptsächlich in Pflanzen, aber auch in tierischem Gewebe findet. Nach den Arbeiten von SUZUKI stellte ROBISON 1923 eine Beziehung zwischen diesem Enzym und dem wachsenden Knochen her. Bald wurde ein Zusammenhang der alkalischen Phosphase mit aktiven Transportleistungen im Organismus erkannt (VERZÀR 1936). So tritt sie überall dort auf, wo Zucker durch Membranen transportiert werden muß, z. B. im Dünndarm und in den Nierentubuli. Da das Enzym bei Phosphorylierungen und Dephosphorylierungen eine Rolle spielt und da zahlreiche Zellbestandteile und Zwischenprodukte des Stoffwechsels Phosphosäureester sind, kann man für die Phosphatasen ein nahezu ubiquitäres Vorkommen annehmen.

In gewissen Geweben kommt es zu einer Anhäufung der Phosphatasen, während diese Enzyme in anderen nur in geringen Konzentrationen vorhanden sind.

Sehr reich an alkalischen Phosphatasen sind: Die Darmmukosa, die Nieren und der Knochen. In der Niere und in der Darmmukosa dient die Phosphatase dem Zuckertransport. Im Knochen spaltet sie in den Cambiumzellen, den Osteozyten und den Blutgefäßen der Volkmann'schen Kanäle die aus dem Blut ins Gewebe diffundierten Phosphatester. Es kommt zu einer lokalen Anhäufung von Phosphat im Knochen, das sich als Calciumphosphat an den Ossifikationsstellen niederschlägt.

Die Prostata weist ebenfalls eine hohe Aktivität von Phosphatasen auf, deren Ph-Optimum hier jedoch im sauren Milieu liegt (pH 4,4 - 6).

Der Oberbegriff der sauren Phosphatase umfaßt zumindest 3 verschiedene Untergruppen und zwar die Prostataphosphatase, die Erythrozytenphosphatase und eine Phosphatase, die in Leber und Milz vorkommt, jedoch für die Humanbiologie und Pathologie bedeutungslos ist. Alle diese Typen der sauren Phosphatase sind an hydrolytischen, synthetisierenden und transferierenden Stoffwechselprozessen beteiligt d. h. "überall wo Zuckertransport und Zuckermetabolisierung stattfindet, wo Ossifikationsvorgänge ablaufen, wo fibrilläres Eiweiß synthetisiert wird wie im Pankreas, der Parotis, in der Leber und in Lymphknoten treffen wir auf Phosphatasen in größeren Mengen" (RICHTERICH).

Bei einer Reihe von Organen, in denen größere Mengen von Phosphatasen nachzuweisen sind, blieb deren physiologische Aufgabe bisher unklar. Dazu zählen: Die Schilddrüse, das Gehirn, die Zona reticularis der Nebenniere und die Tonsillen.

b) Phosphatasen und Tonsillen:

Während bei manchen Organen die Erforschung der Phosphatasen Licht in funktionelle Probleme bringen konnte, und bei anderen Organen umgekehrt deren Phosphatasegehalt aus der Funktion zu erklären war, ist bei der Tonsille weder das eine noch das andere bisher der Fall.

Die Tonsille als Teil des lymphatischen Systems mit sehr fraglicher Sonderfunktion ist in Bezug auf die Phosphatasen quantitativ noch wenig untersucht worden. In der Literatur findet sich lediglich eine Arbeit von MARINELLI und VESCIA, in der quantitative Bestimmungen der alkalischen Phosphatase mitgeteilt werden. Eine Arbeit über den Gehalt der Tonsille an saurer Phosphatase ist in der uns zugänglichen Literatur bisher überhaupt noch nicht veröffentlicht worden.

Groß hingegen ist die Zahl der histochemischen Arbeiten, die sich vorwiegend mit der alkalischen Phosphatase befaßt haben.

In den Gaumenmandeln wurde das Enzym nachgewiesen von BOENNINGHAUS; CELESTINO und GIROLAMO; COPPO; GIROLAMO und LEVA; GALETTI und CAVAZUTTI; GANZ; MEYER ZUM GOTTESBERGE; PARADISI sowie SCHÄTZLE. In der Rachenmandel fand es GANZ, in Halslymphknoten stellten es ACKERMANN; DEL BO und GANDOLFI, LENNERT; MORITZ; BRAUNSTEIN und Mitarb.; WACHSTEIN dar.

Die saure Phosphatase wurde in der Gaumenmandel von CELESTINO und GIROLAMO nachgewiesen, in Halslymphknoten von LENNERT, LEDER und LÖFFLER. Zwischen den genannten Autoren haben sich hinsichtlich der alkalischen Phosphatase teilweise erhebliche Befund-Differenzen ergeben, die im wesentlichen auf die benutzte Methodik zurückzuführen sind.

Diejenigen Autoren, die die Ca-Co-Methode nach GOMORI verwendeten, fanden überwiegend einen hohen Phosphatasegehalt und außerdem neben positiven Befunden an Epithel und Capillarwänden auch solche an verschiedenen Zellen, insbesondere den Lymphocyten der sog. "Polkappe" um die Sekundärfollikel. Wenn auch die von GANZ sowie ACKERMANN beobachtete Anfärbung der Lymphozytenkerne ein methodisch bedingter Artefakt sein dürfte, so schien es doch den meisten Autoren sicher, daß das Enzym im wesentlichen zellgebunden sei (CELESTINO und GIROLAMO, MEYER ZUM GOTTESBERGE, SCHÄTZLE). Die Phosphataseaktivität scheint etwas mit der Zellbildung zu tun zu haben, denn Blutlymphozyten enthalten keine Phosphatase (MEYER ZUM GOTTESBERGE).

Stark im Gegensatz zu den bisher genannten Befunden steht LENNERT, der in Halslymphknoten mit der Azofarbstoffmethode nach PEARSE eine stärkere Aktivität in den faserreichen Bezirken, nicht aber in den Lymphozyten feststellte.

Er fand im ganzen deutlich geringere Aktivität als die anderen Autoren. Auch CELESTINO und GIROLAMO hatten mit der Azofarbstoffmethode an den Tonsillen weniger stark gefärbte Schnitte. Sie äußerten sich allerdings nicht bindend zu der Frage der intra- oder extrazellulären Lokalisation.

Bei der sauren Phosphatase zeigte sich auf den Schnitten von CELESTINO und GIROLAMO ebenfalls ein Unterschied zwischen GOMORI- und PEARSE-Technik insofern, als bei gleicher prinzipieller Verteilung des Enzyms über das Gewebsbild hin die nach PEARSE behandelten Präparate wesentlicher schwächer gefärbt waren. LENNERT, LEDERER und LÖFFLER fanden am Lymphknoten mit der Azofarbstoffmethode die Germinoblasten und Lymphozyten frei von saurer Phosphatase, dagegen die Zellen des reticuloendothelialen Systems sowie tuberkulöses Gewebe einschließlich der Langhans'schen Riesenzellen stark positiv.

Trotz der schon recht stattlichen Literatur ist also bisher weder eindeutig klar, wie hoch der Phosphatasegehalt von Tonsillen und Lymphknoten denn eigentlich ist, noch in welchen Gewebselementen die beiden Enzyme lokalisiert sind. Eine endgültige Klärung wäre aber wichtig, da sie möglicherweise Aufschlüsse über immer noch unklare Sonderaufgaben der Tonsillen geben könnte.

c) Die Funktion der Tonsillen:

Die Tonsille zählt zu den lymphatischen Organen, die in Milz, Lymphknoten und lymphoepitheliale Organe (Tonsillen) unterteilt werden. Die wichtigen Theorien über die Funktion sind folgende:

In den Follikelzentren werden nach FLEMMING Lymphozyten gebildet. Diese Lymphozyten wandern aus dem Epithel in den Mund- und Rachenraum aus (STÖHR). BRIEGER und GÖHKE sahen in den Tonsillen Zentren der Infektionsabwehr.

Sie faßten die Follikelzentren als Reaktionszentren auf und nahmen eine Antikörperbildung in den Tonsillen an. Im Gegensatz zu ihnen sah SCHOENEMANN die Tonsillen als Infektionsquelle an, über die Bakterien in den Körper eindringen können. Nach NEUMANN sollen die Tonsillen Ausscheidungsorgane für Verdauungsfermente sein. Schließlich wurden sie in engen Zusammenhang mit Blutdruckhöhe, Körpergröße sowie auch den verschiedensten endokrinen Drüsen gebracht. (FALK und Mitarb.)

d) Fragestellung der vorliegenden Arbeit:

Ein hoher Phosphatasegehalt eines Gewebes ist eigentlich immer ein Hinweis auf spezifische Funktionen bezw. lebhafte Stoffwechselaktivität.

Nach einigen Autoren (s. bei FIORETTI) ist sowohl die immunbiologische Aktivität als auch die Phase lebhafter Zellneubildung der Tonsillen während des postnatalen Lebens zeitlich begrenzt. Aus der Höhe des Phosphatasegehaltes in den einzelnen Lebensabschnitten könnte nach dem Obengesagten vielleicht eine Stellungnahme zum Problem dieser zeitlichen Funktionsbeschränkung möglich werden.

Ein weiteres Problem ist die Hyperplasie des lymphatischen Gewebes. Als Tonsillenhyperplasie bezeichnen wir ja eine Zunahme von Zahl und Größe der Lymphfollikel in der Mandel, die eine mehr oder minder deutliche Größen- und Gewichtszunahme des Organs bedingen (zitiert nach GANZ, 1967). Ist eine solche Hyperplasie immer als Ausdruck einer gesteigerten Aktivität des Organs zu werten, wie das für die Rachenmandel im Kindesalter für gegeben gehalten wird? (FALK und MAURER)

In der vorliegenden Arbeit wird über Aktivitätsbestimmungen der alkalischen und sauren Phosphatase im Tonsillengewebe und im Blutserum berichtet, die eine Stellungsnahme zu folgenden Fragen ermöglichen sollten:

1. Wie hoch ist der Gehalt der Tonsillen an Phosphatasen wirklich?
2. Tritt eine Änderung des Phosphatasengehaltes in verschiedenen Lebensaltern auf?
   a) bei der Rachenmandel
   b) bei der Gaumenmandel
3. Ändert sich der Phosphatasengehalt bei verschiedenen Reaktionszuständen der Tonsille wie z. B. bei akuter und chronischer Entzündung oder bei Hyperplasie?
4. Finden sich quantitative Beziehungen zwischen dem Phosphatasegehalt der Tonsille und dem des jeweiligen Blutserums?
5. Wie verhalten sich vergleichsweise andere lymphatische Organe (Lymphknoten)?
6. Haben nach unseren Ergebnissen die Enzymbestimmungen aus einer Tonsillengewebsbiopsie oder evtl. nur die Bestimmung aus dem Blutserum Bedeutung für die Differentialdiagnostik der Tonsillenerkrankungen?

Methodik

a) Allgemeines:

Seit Jahrzehnten gehören Bestimmungen der unspezifischen Phosphomonoesterasen im Serum zu den Routineuntersuchungen der klinischen Laboratorien. Nach dem Wirkungsoptimum unterscheidet man die alkalische Phosphatase (Optimum zwischen pH 7 - 9,5) und die saure Phosphatase (Optimum zwischen pH 4,5 - 6). Das Einhalten der optimalen H^+-Konzentrationen ist entscheidend für das Erhalten zuverlässiger Werte im Test. Wir haben die optimalen pH-Werte für die alkalische und saure Phosphatase im Tonsillengewebe in Vorversuchen ermittelt (s. dort).

I. Saure Phosphatase:

Wir bestimmten in unserer Arbeit die Aktivität der sauren Phosphatase in Serum und Gewebshomogenat gleichzeitig. Nach LINHARDT und WALTER kann die Bestimmung der Phosphatasen mit der zur Serumuntersuchung üblichen Methode auch im Gewebshomogenat durchgeführt werden.

KING und ARMSTRONG (1934) verwendeten Phenylphosphat als Substrat und maßen die Aktivität des Enzyms durch Bestimmung des freigesetzten Phenols mit Folin. Das Verfahren wird vereinfacht durch Substrate, deren phosphatfreier Rest im alkalischen Milieu farbig ist, z. B. mit Phenolphtalein-Diphosphat (HUGGINS und TALALEY, 1945) oder mit Paranitrophenylphosphat nach BESSEY, LOWRY und BROCK (1946).

Bei der Bestimmung der Phosphatase mit Paranitrophenylphosphat, wie wir sie modifiziert nach ANDERSCH (1947) angewendet haben, kann nach Abspaltung des Phosphats das freigewordene Paranitrophenol in alkalischer Lösung auf Grund der Gelbfärbung kolorimetriert werden. Die pro Zeiteinheit freigesetzte Menge ist ein direktes Maß für die Phosphatase-Aktivität.

Wie vorher schon ausgeführt, umfaßt der Begriff der sauren Phosphatase mehrere Typen. So stammt ein Teil aus der Prostata, ein Teil aus Erythrozyten und eine unwesentliche Fraktion aus Leber und Milz. Bei einer Gesamtbestimmung der sauren Phosphatase mit p-Nitrophenylphosphat werden diese Typen alle erfaßt.

Seit FISHMAN und LERNER ist bekannt, daß die saure Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt werden kann. Man kann die saure Prostataphosphatase nunmehr dadurch spezifisch bestimmen, das der Test einmal mit und einmal ohne Tartrat ausgeführt wird. Die Differenz beider Ergebnisse ergibt den Anteil der Prostataphosphatase. Wir pipettierten zur Hemmung der Prostataphosphatase 0,1 ml einer 0,2 M Tartratlösung in den jeweiligen Ansatz.

Die Erythrozytenphosphatase kann durch Formaldehyd gehemmt werden.(LINHARDT). Wir setzten dem zu hemmenden Ansatz 0,02 ml Formalin zu.

II. Alkalische Phosphatase: s. unt. Durchführung d.Versuche

b) Untersuchungsmaterial:

Wir haben insgesamt 106 Versuche durchgeführt. Darunter waren 64 Gaumenmandeln, 32 Rachenmandeln und 9 Lymphknoten. Es wurde ausnahmslos frisches Operationsgut verwendet. Die Tonsillen oder Lymphknoten wurden zunächst von Bindegewebe und Epithelanhängen makroskopisch freipräpariert sowie von Krypteninhalt befreit und dann gewogen.

c) Durchführung der Versuche:

Auf der Analysenwaage wurden 0,5 g. des Versuchsmaterials ausgewogen und mit 5 ml physiolog. Kochsalzlösung in ein Ultra-Turrax-gläschen eingebracht. Mit dem Ultra-Turrax wurde nun das Gewebe homogenisiert (24.000 U/min). Damit keine zu hohen Temperaturen dabei auftraten, stellten wir das Glas während des Homogenisationsvorganges in ein Kältebad,bestehend aus Wasser, Viehsalz und Eiswürfeln. Die Dauer des Homogenisierens betrug 6x15 sek.

Zu jedem Gewebsextrakt untersuchten wir auch die Phosphatasen im zugehörigen Serum. 5 ml Blut wurden bei 600 - 700 U/min. zentrifugiert, bis sich ein klarer Serumüberstand gebildet hatte, der als Versuchsmaterial verwendet wurde. Homogenat und Serum sind stets sofort verarbeitet und nicht längere Zeit aufbewahrt worden, so daß die Ergebnisse verfälschende chemische Umsetzungen vermieden werden konnten.

Bei den meisten Versuchen wurden die Zahl der Leucozyten, die Blutsenkungsgeschwindigkeit und das Differentialblutbild bestimmt. Wir wollten hierdurch störende Einflüsse insbesondere entzündlicher Nebenerkrankungen erkennen, um solche Versuche aussondern zu können.

Wir verwendeten als Substrat p-Nitrophenylphosphat (Hersteller Fa. Merck, AG). Um den pH-Wert möglichst konstant zu halten, wurde das Substrat an jedem Tag frisch mit Puffer angesetzt. Für die Bestimmung der sauren Phosphatase verwendeten wir Citratpuffer, für die Bestimmung der alkalischen Phosphatase Glyzinpuffer. Der Citratpuffer wurde nach SØRENSEN hergestellt, indem 21,0 gr. Citronensäure in 200 ml Natronlauge gelöst und mit Aqua bidest. auf 1 l. aufgefüllt wurden. Der genaue pH-Wert wurde mit 0,1 n Salzsäure eingestellt. Bei der Herstellung des Glyzinpuffers nach SØRENSEN wurden 7,5 g Glyzin und 5,85 g Kochsalz in 1 l Aqua bidest. gelöst. Die Feineinstellung des pH erfolgte bei diesem Puffer mit 0,1 n Natronlauge. Beide Puffer waren 0,05 M.

Bestimmung der alkalischen Phosphatase

Zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase wurden 0,1 ml Glyzinpuffer und Substrat gemischt und dazu 0,1 ml Homogenat bezw. Serum in ein Reagenzglas pipettiert. Als Leerwert wurde Puffersubstratgemisch ohne Serum bezw. Homogenat mitgeführt. Die so angesetzten Proben wurden für 30 min. bei 37 Grad C inkubiert, danach mit 10,0 ml 0,02 normaler Natronlauge aufgefüllt. Dadurch wurde die Reaktion sofort abgestoppt. Dem Leerwert wurde jetzt erst das Homogenat bezw. das Serum zugefügt und nach kräftigem Mischen die Extinktion von Voll- und Leerwert im EPPENDORF-Photometer gemessen (405 nm).

Bestimmung der sauren Phosphatase

Die Bestimmung der sauren Phosphatase ist nur im Ansatz der Werte anders, die Inkubierung, der Reaktionsstop und das Mitführen der jeweiligen Leerwerte geschieht analog der Bestimmung der alkalischen Phosphatase. Die Ansätze sind aus folgendem Schema ersichtlich:

Reagenzien	Glas I	Glas II	Glas III	Glas IV
1,0 ml Puffer Substratgemisch	+	+	+	+
0,1 ml Tartrat		+		+
0, 02 ml Formalin			+	+
0,2 ml Serum bezw. Homogenat	+	+	+	+

Den Leerwerten, die in jedem Versuch mitgeführt wurden, wurde das Serum bezw. das Homogenat erst nach Beigabe von 10 ccm 0,02 n Natronlauge zugegeben. Außer dem Abstoppen der Reaktion kam der Natronlauge noch die Aufgabe zu, dem während der Inkubationszeit abgespaltenen p-Nitrophenol Farbe zu verleihen. Die Ansätze der sauren Phosphatase wurden wie die alkalischen Ansätze im EPPENDORF- Photometer gemessen (405 nm).

Berechnung der Werte

Eine Phosphataseeinheit ist nach BESSEY die in einem l Serum bezw. Homogenat enthaltene Enzymmenge, die in einer Stunde bei 37,0 Grad C 1 mMol = 140 mg p-Nitrophenol freisetzt.

1.) Saure Phosphatase:

Die Phosphataseeinheiten errechnen sich nach:

Extinktion x 6,05

2.) Alkalische Phosphatase:

Hier ergibt sich ein Multiplikationsfaktor von 12,0.

Sämtliche Ergebnisse wurden später in die jetzt allgemein üblichen internationalen Milli-Einheiten umgerechnet.

Berechnung:

1.) Saure Phosphatase:

a) Serum: Extinktion (Farbtest) x 101 (bei einem Einsatz von 0,02 ml Serum)

b) Homogenat: Extinktion (Farbtest) x 101 x 10 (Bei einem Einsatz von 0,2 ml Homogenat)

2.) Alkalische Phosphatase:

a) Serum: (Farbtest)Extinktion x 200 (bei einem Einsatz von 0,1 ml Serum)

Extinktion x 100 (bei einem Einsatz von 0,2 ml Serum)

b) Homogenat: (Farbtest) Extinktion x 200 x 10 (bei einem Einsatz von 0,1 ml Homogenat)

Extinktion x 100 x 10 (bei einem Einsatz von 0,2 ml Homogenat)

d) Kinetischer Test zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase:

Auf der Basis der p-Nitrophenylphosphat-Methode von BESSEY und LOWRY wurde von RICK und HAUSAMEN ein kinetischer Test entwickelt. Das zu untersuchende Serum bezw. Homogenat läßt man hierbei in der Meßkuvette auf das Substrat einwirken und mißt von Minute zu Minute die Extinktionszunahme bei 405 nm. Unter gewissen hier erfüllten Bedingungen (gleiche Anfangskonzentration, Sättigung des Ferments mit dem Substrat) kann die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion als Maß für die Fermentkonzentration gelten.

Durchführung des Tests: Das Substrat wurde in Glyzinpuffer in gleicher (optimaler) Konzentration wie zum Farbtest gelöst. 2 ml davon wurden in eine Meßkuvette (Schichtdicke 1 cm) pipettiert und auf 25 Grad C erwärmt. Sobald die zur optimalen Reaktion nötige Temperatur von 25 Grad C erreicht war, wurden 0,02 ml Serum bezw. Homogenat dazu pipettiert. Nachdem gut gemischt worden war, wurde jede Minute die Extinktionszunahme auf der Meßskala des EPPENDORF-Photometers abgelesen. Die Extinktionsdifferenz pro Minute ergab sich dann direkt aus der Substraktion zweier Werte. Koppelt man das Photometer mit einem Extinktionsschreiber, so kann eine Umsatz-Zeit-Kurve direkt aufgezeichnet und ausgemessen werden. Die Enzymkonzentration wird nach folgender Formel berechnet (MERCK-Vorschrift):

$$\text{Enzymkonzentration (mU/ml)} = \Delta E_{405} \times 5460$$

Der Vorteil der kinetischen Methode ist eine größere Genauigkeit, da während der kurzen Reaktionszeit keine verfälschende pH-Änderung eintritt.

Außerdem ist der kinetische Test wesentlich schneller und einfacher als der optische Test durchzuführen.

Da z. Zt. noch kein Substrat bekannt ist, das die Bestimmung der sauren Phosphatase mit Hilfe eines kinetischen Testes erlaubt, kann vorerst kein entsprechender Reagenziensatz von der chemischen Industrie zur Verfügung gestellt werden. Zu diesem Zweck müßte ein Substrat gefunden werden, das in saurem Milieu gespalten wird und dabei die für die photometrische Messung erforderliche Farbänderung zeigt, wie es im alkalischen Bereich beim p-Nitrophenylphosphat der Fall ist. (Mitteilung der Fa. MERCK AG).

Wir haben bei insgesamt 22 Versuchen den kinetischen Test und den Farbtest parallel durchgeführt, um beide Methoden vergleichen zu können.

Die Enzymaktivitäten waren beim kinetischen Test in der Regel höher als beim Farbtest.

" Zwangsläufig ändern sich durch den Ablauf der Enzymreaktion unter den gegenüber dem bisherigen Verfahren (=Farbtest) verbesserten Bedingungen auch die Werte des Normalbereichs, da die gleiche Enzymreaktion in einem günstigeren Milieu eine höhere Aktivität entfaltet. Die Abhängigkeit des Normalbereichs von der verwendeten Bestimmungsmethode ist eine allgemein bekannte Erscheinung in der klinischen Chemie, die zu der Folgerung führt, bei den ermittelten Werten die jeweilige Testmethode mit anzugeben." (Med. Monatsspiegel MERCK 1967, Heft 3)

Die von uns ermittelten Werte lagen leicht oberhalb des von der Fa. MERCK AG angegebenen Normalbereichs für den kinetischen Test.

Normalwerte nach Arbeitsvorschrift der E. MERCK AG:

a) Farbtest, saure Phosphatase im Serum:
   Kinder : 10 - 20 mU/ml
   Erwachsene : 3,4 - 13 mU/ml
b) Farbtest, alkalische Phosphatase im Serum:
   15 bis 69 mU/ml
c) kinetischer Test, alkalische Phosphatase im Serum:
   60 bis 170 mU/ml

Versuchsergebnisse

1.) Vorversuche:

a) Die Wasserstoffionenkonzentration beeinflußt die Wirkung der Enzyme in entscheidender Weise. Untersucht man z. B. die Wirkung irgendeines Enzyms in durch Puffersubstanz eingestellten Lösungen von steigendem pH, so ergibt sich, daß die Wirkung gleicher Enzymmengen auf das Substrat bei sonst gleichen Bedingungen bei einer bestimmten H^+-Konzentration ein ausgesprochenes Maximum besitzt. Dieser optimale pH-Bereich kann mehr oder weniger schmal sein. Er liegt für viele Enzyme um den Neutralpunkt.

b) Neben der Wasserstoffionenkonzentration ist für die Reaktionsgeschwindigkeit und damit die Bestimmung der Enzymaktivität vor allem die Menge des Substrats von Bedeutung. "Jede Enzymreaktion zerfällt in zwei Schritte: Zuerst verbindet sich das Enzym mit dem Substrat zu einem Enzymsubstratkomplex, darauf zerfällt dieser Komplex in das Enzym und das Reaktionsprodukt. Da nun das Substrat einzig im Komplex in reaktionsfähiger Form vorliegt, wird die Reaktionsgeschwindigkeit der Konzentration des Komplexes proportional sein. Wird bei konstanter Fermentkonzentration die Substratkonzentration gesteigert, so muß die Konzentration des Komplexes ansteigen, bis schließlich alles Ferment an das Substrat gebunden ist. Die Reaktionsgeschwindigkeit strebt dabei asymptotisch ihrem maximalen Wert zu. Diese Tatsache ist wichtig, wenn man Fermentkonzentrationen durch Messung der Aktivität vergleichen will. Die Substratkonzentration muß immer so hoch gewählt werden, daß das Ferment gesättigt ist." (zit. nach LEUTHARDT)

Für die Phosphatasebestimmung im Gewebe haben wir sowohl die optimale Wasserstoffionenkonzentration als auch die beste Substratkonzentration in Vorversuchen ermitteln müssen, da wir die Testangaben für Blutserum nicht ohne weiteres übernehmen zu können glaubten.

1.) Die optimale Wasserstoffionenkonzentration:

In den Arbeitsvorschriften der Firmen BOEHRINGER und MERCK wird übereinstimmend für die Bestimmung der sauren Phosphatasen im Serum ein pH-Optimum von 4,8 und für die alkalische Phosphatase ein solches von 10,5 angegeben. Diese Werte lassen sich nicht ohne weiteres auf Untersuchungen von Gewebshomogenaten übertragen. Bei der sauren Phosphatase wäre weiterhin für die Homogenattests zu prüfen, ob hier der für Serumuntersuchungen verwendete Citratpuffer ebenfalls der geeignetste ist, und ob der eingestellte pH-Wert wirklich auch hier eine optimale Erfassung aller drei Enzymkomponenten gewährleistet.

Während das pH-Optimum der beim Menschen wahrscheinlich bedeutungslosen Leber/ Milz-Phosphatase bei 3,8 liegen soll, liegt dieser Wert für die Prostata-Phosphatase bei 5,3 und für die Erythrozytenphosphatase bei 5,6 (DEANE, BARRNETT a. SELIGMAN).

Wir haben zwei orientierende Versuche mit Enzymbestimmungen bei diesen drei pH-Werten durchgeführt, und folgende Ergebnisse (mU/g Gewebe) erhalten:

	pH 3,8		pH 5,3		pH 5,6	
	I	II	I	II	I	II
Gesamtwert		1618	3662	3730	3690	3610
Tartratwert		1010	3590	3320	3520	3510
Formalinwert		1188	3100	1510	2590	1598
Formalin + Tartratwert		458	2020	1211	2010	1373

Die fragwürdige Leber/ Milz-Phosphatasefraktion (pH 3,8/Formalin-Tartratwert) scheint wenn überhaupt nur in Spuren nachweisbar zu sein. Die bei pH 5,3 und 5,6 erhaltenen Werte differieren bei beiden Versuchen kaum.

Das ist wohl so zu deuten, daß bei beiden pH-Werten Erythrozyten- und Prostata-Phosphatase etwa gleich gut erfaßt werden. Siehe aber die Diskussion dieser Arbeit.

Die Testvorschriften für Serum-Phosphataseuntersuchungen geben mit 4,8 einen deutlich niedrigeren pH-Wert an. Es mußte deshalb nachgeprüft werden, ob man auch mit Gewebsproben in diesem Bereich noch optimal arbeitet. In einem weiteren Vorversuch wurde deshalb mit dem gleichen Gewebshomogenat je ein Test bei pH 5,6 und bei pH 4,8 (= dem Wert der Arbeitsvorschrift) durchgeführt. Die Ergebnisse des Vergleichs sind in folgender Tabelle in mU/g Gewebe angegeben:

mU/g	pH 4,8	pH 5,6
Gesamtwert	3380	3360
Tartratwert	3020	3240
Formalinwert	1540	1460
Formalin + Tartratwert	836	962

Die Ergebnisse für beide pH-Werte stimmten innerhalb der Fehlergrenzen der Methode überein. Wir haben deshalb der Einfachheit halber auch im Gewebe bei pH-4,8 gemessen.

Wir haben weiterhin den Citrat- und Acetatpuffer hinsichtlich der Eignung für den Test verglichen, indem wir für beide Puffergemische (pH-Wert von 4,8) mit demselben Homogenat je einen Versuch ansetzten. Die Werte sind in folgender Tabelle wieder in mU/g Gewebe angegeben:

mU/g	Acetatpuffer	Citratpuffer
Gesamtwert	3690	3610
Formalinwert	3520	3510
Tartratwert	2590	1560
Formalin- + Tartratwert	2010	1373

Nach diesen Werten scheint es für die Gesamtaktivitäten sowie die Erythrozytenphosphatase gleichgültig, ob Citrat- oder Acetatpuffer verwendet werden. Wir haben uns für den Citratpuffer (pH 4,8) nach SØRENSEN entschieden (Ansatz s. Methodik).

2.) Die optimale Substratkonzentration:

Zeichnet man die Geschwindigkeit einer Enzymreaktion in Abhängigkeit von der Substratkonzentration auf, so ergibt sich eine Kurve, deren oberer Teil sich asymptotisch dem maximalen Wert der Reaktionsgeschwindigkeit nähert. Wir haben für das Tonsillenhomogenat versucht, die optimale Substratkonzentration zu ermitteln.

a) Saure Phosphatase:

In 20 ml Citratpuffer (pH 4,8) wurden in absteigender Reihe 30, 26, 22 und 18 mg P-Nitrophenylphosphat gelöst. Die so erhaltenen Puffersubstratlösungen waren demnach 5,0; 4,3; 3,6; 3,0 und 2,3 mM. Für jedes Mischungsverhältnis wurden alle Ansätze zur Bestimmung der sauren Phosphatasetypen durchgeführt. In folgender Tabelle sind nur die jeweiligen Gesamtwerte in mU/g Gewebe wiedergegeben:

Substratkonz.	5,0	4,3	3,6	3,0	2,3	mM
Enzymaktivität	3646	3646	3381	3080	2660	

Die Konzentrationen von 5,0 mM und 4,3 mM liegen schon im Sättigungsbereich. In den Arbeitsvorschriften von MERCK und BOEHRINGER wird eine Puffersubstrat-Konzentration von $5,5 \times 10^{-3}$ M/l angegeben. Wir haben zur Vereinfachung des Ansatzes des Puffersubstratgemisches mit einer $5,0 \times 10^{-3}$ M-Lösung gearbeitet.

b) Alkalische Phosphatase:

Einen prinzipiell gleichen Test zur Bestimmung der optimalen Substratkonzentration haben wir auch für die alkalische Phosphatase durchgeführt. Die Enzymaktivitäten wurden bei Substratkonzentrationen von 5,5; 5,0; 4,4; 3,8; 3,3 und 2,7 mM/l gemessen. Als Puffer wurde Glycinpuffer (pH 10,5) verwendet. Die Versuche sind am gleichen Homogenat durchgeführt worden.

Es ergab sich, wie aus nachstehender Tabelle zu ersehen ist, daß die Enzymaktivität von der Substratkonzentration von 5,5 mM/l zu den geringeren Substratkonzentrationen hin abfällt:

Substratkonz.	5,5	5,0	4,4	3,8	3,3	2,7	mM
Enzymaktivität	710	594	590	542	520	420	mU/g Gewebe

Der Testansatz für Serumuntersuchungen (5,5 mM) scheint in gleicher Weise auch für das Tonsillengewebe anwendbar.

pH-Wert, Puffer- und Substratkonzentration der Arbeitsvorschriften von BOEHRINGER und MERCK zur Phosphatasebestimmung im Serum können also unverändert auch zur Untersuchung des Tonsillenhomogenats Anwendung finden.

- - - - - - - - - - -

2) Hauptversuchsserien

Wir haben insgesamt 106 Versuche durchgeführt und zwar
an 66 Gaumenmandeln
30 Rachenmandeln
10 Halslymphknoten

Das Untersuchungsmaterial stammte jeweils vom Menschen.

A) Versuche an Gaumenmandeln.

Unter den 66 untersuchten Gaumenmandeln waren 3 akut entzündet, 3 Tonsillentumoren und 60 chronisch entzündete Tonsillen. Die 60 chronisch entzündeten Tonsillen haben wir entsprechend unserer Fragestellung
a) nach dem Lebensalter
b) nach dem Organgewicht
weiter aufgeschlüsselt.

Tabelle I

Alter	1-12	13-20	21-40	über 40 J.
Gewicht über 4g	6 Vers.	12 Vers.	6 Vers.	3 Vers.
Gewicht unter 4 g	9 Vers.	9 Vers.	9 Vers.	6 Vers.

a) saure Phosphatase:

Die Aktivität der sauren Phosphatase im Serum und im Gewebshomogenat ist in Tabelle II zusammengestellt. Maßeinheit für die Werte im Homogenat ist mU/g Gewebe und für die Serumwerte mU/ml Serum +).

Die Ergebnisse dieser Serie zeigt Tabelle II

+) Definition mU/g Gewebe bezw. mU/ml Serum.
1 internationale Enzymeinheit (U) ist die Enzymmenge, die ein Mol Substrat in einer Minute unter Standardbedingungen umsetzt. Eine Milli-Einheit (mU) entspricht somit einem 1/1000 U.
(Report of the commission Enzymes of the IUB).(1964)

Tabelle II

Gaumenmandeln Chron. Tonsillitis	Versuch Nr.	1 Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		2 Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		3 Erythrozyten phosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		4 Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog
Altersgruppe 1-12 Jahre Gewicht unter 4 g	1	3100	17,5	2590	11,6	1450	8,5	819	6,5
	2	2710	15,1	2504	14,1	1530	12,4	786	11,8
	3	3590	17,6	3010	15,6	920	10,9	660	10,6
	4	2710	17,5	2282	11,6	1162	8,5	585	6,5
	5	3241	5,6	3000	4,7	1710	1,8	986	1,0
	6	2585	28,3	2170	24,7	1221	22,4	779	17,2
	7	3401	17,4	2888	11,0	1535	5,3	726	4,8
	8	2780	9,4	2542	7,2	1245	3,2	698	2,1
	9	2738	9,4	2420	7,2	1528	3,2	739	2,1
Mittelwerte: Altersgruppe 1-12 Jahre Gewicht über 4 g		2847	15,2	2623	11,9	1366	9,3	755	5,8
	10	2168	10,1	1689	8,8	788	4,3	606	3,2
	11	3120	7,6	2810	7,1	2211	6,4	986	2,3
	12	3220	10,7	3100	9,9	1700	3,5	885	2,9
	13	3175	13,2	2745	9,9	1062	3,5	560	7,5
	14	3070	13,2	2612	11,3	749	9,1	211	4,8
	15	2760	7,1	2230	5,8	1155	5,0	820	2,9
Mittelwerte: Altersgruppe 13-20 J. Gewicht unter 4 g		2735	10,0	2531	8,8	1342	7,8	678	3,9
	16	3140	13,9	2808	12,0	1721	10,3	846	9,1
	17	3210	13,4	3015	11,9	2115	5,8	1124	0,6
	18	2940	19,8	2699	19,5	1385	10,5	735	9,5
	19	2860	7,6	2619	6,7	1598	4,6	836	3,7
	20	2740	13,2	2320	11,2	1302	9,6	795	7,1
	21	2920	14,1	2409	10,9	1460	7,1	700	6,2
	22	2815	10,6	2346	8,6	1440	6,5	759	5,1
	23	2880	17,1	2488	16,4	1322	12,4	706	11,1
	24	3120	25,1	2411	21,1	1420	12,8	707	9,7
Mittelwerte:		2958	14,9	2567	13,1	1533	8,8	800	6,9

Die Aktivität der Prostataphosphatase ergibt sich als Differenz von 1 und 2, die der Erythrozytenphosphatase als Differenz von 1 und 3.

Tabelle II (Fortsetzung)

	Versuch Nr.	Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.
Altersgruppe 13-20 Jahre Gewicht über 4 g	25	2940	17,8	2780	17,2	1780	11,5	1032	9,9
	26	3520	8,8	3320	7,8	1579	5,1	956	5,0
	27	3340	9,3	3100	8,2	2020	2,0	845	1,1
	28	3121	13,9	2880	13,3	1532	7,9	880	6,9
	29	3140	5,0	2990	3,3	1559	2,2	875	0,5
	30	3160	17,1	2920	16,4	1561	12,4	769	11,1
	31	2610	7,9	2042	6,7	1239	4,5	569	3,6
	32	3122	9,7	2855	7,7	1545	6,8	856	5,2
	33	2479	9,7	2112	7,7	1172	6,8	780	5,2
	34	2300	19,1	1820	13,7	1100	8,5	631	7,0
	35	2890	19,1	2559	13,7	1240	8,5	627	7,0
	36	2051	10,5	1558	9,7	1299	7,9	684	6,1
Mittelwerte:		2888	12,3	2571	10,4	1467	7,0	791	6,1
Altersgruppe 21-40 Jahre Gewicht unter 4 g	37	2980	6,1	2619	5,4	1482	3,3	735	1,6
	38	3181	11,7	2820	9,8	1965	3,7	922	2,2
	39	3338	5,4	3045	4,3	1710	3,2	817	1,9
	40	3568	16,2	2822	13,6	1600	9,9	822	7,6
	41	3200	6,3	2900	6,0	2100	3,7	695	7,7
	42	2990	7,8	2620	6,2	1300	3,8	696	3,0
	43	2585	10,9	2305	9,6	945	9,4	625	5,6
	44	2780	18,2	2462	14,6	1210	11,1	790	5,3
	45	2790	8,0	2599	4,5	1350	2,5	802	1,5
Mittelwerte:		3045	10,1	2889	8,2	1518	5,6	767	3,5
Altersgruppe 21-40 Jahre Gewicht über 4 g	46	3480	6,3	2612	6,0	1690	2,0	906	1,8
	47	2670	16,4	2312	17,7	1755	13,3	976	11,4
	48	2990	14,9	2788	10,9	1970	6,9	855	6,7
	49	3141	11,1	2921	9,6	1500	6,5	834	4,5
	50	2860	10,6	2635	9,5	1355	4,6	698	4,0
	51	1600	8,8	1068	8,0	855	5,8	660	4,5
Mittelwerte:		2690	11,4	2386	10,1	1470	6,5	821	5,5

Tabelle II (Fortsetzung)

	Versuch Nr.	Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.
Altersgruppe über 40 J. Gewicht unter 4 g	52	2395	9,4	2020	6,8	1050	5,2	552	3,7
	53	2699	16,1	2218	16,7	1129	11,0	500	10,0
	54	2320	8,1	2020	7,1	1090	6,5	716	4,9
	55	2339	6,0	1880	4,9	1012	2,7	606	2,9
	56	2311	7,7	1885	7,3	1150	6,7	667	5,9
	57	2598	11,6	2060	8,3	1090	5,8	592	3,9
Mittelwerte:		2443	9,8	2014	8,2	1086	6,3	605	5,0
Altersgruppe über 40 J. Gewicht über 4 g	58	2390	29,7	1990	19,2	1180	16,7	641	16,0
	59	2338	14,3	2030	12,2	1100	7,2	750	3,2
	60	2429	5,7	2040	5,1	1110	3,5	752	2,1
Mittelwerte:		2386	16,5	2020	12,1	1130	9,1	714	7,1
Tumoren:	61	2120	4,6	1695	3,2	1270	2,5	665	2,1
	62	2000	18,6	1540	17,7	1350	13,6	616	12,6
	63	2347	10,4	2018	9,7	905	7,9	525	6,5
Mittelwerte:		2156	11,2	1751	10,0	1175	8,0	602	7,1
Akut entzündete Tonsillen:	64	3080	10,1	2930	7,6	1615	3,0	1015	2,0
	65	2880	4,8	2700	3,5	1554	2,9	980	1,8
	66	1990	9,1	2520	8,6	1270	5,7	620	4,1
Mittelwerte:		2783	8,0	2716	6,6	1479	3,8	872	2,6

In der folgenden Tabelle III sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen zum Vergleich zusammengestellt. Serum und Homogenat-Werte sind wiederum nebeneinander gestellt, die Maßeinheit für die angegebenen Werte ist mU/ml Serum bezw. mU/g Gewebe.

Tabelle III

(Gesamtaktivität der sauren Phosphatase).

Altersgruppe	Mittelwerte:		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 4 g	15,2	2847	+ 2,2 - 9,6	+ 554 - 189
1-12 Jahre Gewicht über 4 g	10,0	2735	+ 2,8 - 3,2	+ 485 - 576
13-20 Jahre Gewicht unter 4 g	14,9	2958	+ 10,2 - 7,3	+ 252 - 218
13-20 Jahre Gewicht über 4 g	12,3	2888	+ 6,8 - 7,3	+ 632 - 837
21-40 Jahre Gewicht unter 4 g	10,1	3045	+ 8,1 - 4,2	+ 523 - 466
21-40 Jahre Gewicht über 4 g	11,4	2690	+ 6,0 - 5,1	+ 1880 - 1090
über 40 Jahre Gewicht unter 4 g	9,8	2443	+ 6,3 - 2,1	+ 256 - 132
über 40 Jahre Gewicht über 4 g	16,5	2386	+ 13,2 - 10,8	+ 43 - 396
Tumoren	11,2	2156	+ 7,4 - 6,6	+ 191 - 156
Akut entzündete Tonsillen	8,0	2783	+ 2,1 - 3,2	+ 297 - 263

Tabelle III (Fortsetzung)

Prostataphosphatase gehemmt mit Tartrat.

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 4 g	11,9	2623	+ 12,8 - 7,2	+ 659 - 453
1-12 Jahre Gewicht über 4 g	9,5	2531	+ 52,3 - 13,7	+ 569 - 842
13-20 Jahre Gewicht unter 4 g	13,1	2567	+ 8,0 - 6,4	+ 441 - 158
13-20 Jahre Gewicht über 4 g	10,4	2571	+ 6,8 - 7,1	+ 749 - 1013
21-40 Jahre Gewicht unter 4 g	8,2	2889	+ 6,4 - 3,9	+ 356 - 227
21- 40 Jahre Gewicht über 4 g	10,1	2386	+ 7,6 - 4,1	+ 394 - 1318
über 40 Jahre Gewicht unter 4 g	8,2	2014	+ 6,5 - 3,3	+ 204 - 134
über 40 Jahre Gewicht über 4 g	12,1	2020	+ 7,1 - 7	+ 20 - 30
Tumoren	10,0	1751	+ 7,7 - 6,8	+ 265 - 211
Akut entzündete Tonsillen	6,6	2716	+ 2,0 - 3,1	+ 214 - 196

Tabelle III (Fortsetzung)

Erythrozytenphosphatase gehemmt mit Formaldehyd.

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 4 g	9,3	1366	+ 13,1 - 7,5	+ 344 - 446
1-12 Jahre Gewicht über 4 g	15,0	1342	+ 53,1 - 11,5	+ 869 - 593
13-20 Jahre Gewicht unter 4 g	8,8	1533	+ 4,0 - 4,2	+ 617 - 231
13-20 Jahre Gewicht über 4 g	7,0	1467	+ 5,4 - 5,0	+ 553 - 367
21-40 Jahre Gewicht unter 4 g	5,6	1518	+ 4,5 - 3,1	+ 582 - 573
21-40 Jahre Gewicht über 4 g	6,5	1470	+ 5,8 - 4,5	+ 285 - 615
über 40 Jahre Gewicht unter 4 g	6,3	1086	+ 4,7 - 3,6	+ 64 - 36
über 40 Jahre Gewicht über 4 g	9,1	1130	+ 7,6 - 5,6	+ 50 - 30
Tumoren	8,0	1175	+ 5,6 - 5,5	+ 175 - 270
Akut entzündete Tonsillen	3,8	1479	+ 1,9 - 0,9	+ 136 - 209

Tabelle III (Fortsetzung)

Erythrozytenphosphatase und Prostataphosphatase gehemmt.

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 4 g	5,8	755	+ 11,4 - 4,8	+ 231 - 170
1-12 Jahre Gewicht über 4 g	7,4	678	+ 15,3 - 4,5	+ 198 - 467
13-20 Jahre Gewicht unter 4 g	6,9	800	+ 4,2 - 6,3	+ 324 - 100
13-20 Jahre Gewicht über 4 g	6,5	797	+ 5,8 - 5,6	+ 241 - 546
21-40 Jahre Gewicht unter 4 g	3,5	767	+ 4,2 - 2,0	+ 155 - 142
21-40 Jahre Gewicht über 4 g	5,5	821	+ 5,9 - 3,7	+ 155 - 161
über 40 Jahre Gewicht unter 4 g	5,0	605	+ 5,0 - 3,0	+ 111 - 105
über 40 Jahre Gewicht über 4 g	7,1	714	+ 8,9 - 5,0	+ 38 - 73
Tumoren	7,1	602	+ 5,5 - 5,0	+ 63 - 77
Akut entzündete Tonsillen	2,6	872	+ 1,5 - 0,6	+ 143 - 252

Tabelle IV

Die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase in Serum und Gaumenmandelhomogenat (mU/ml bezw. mU/g Gewebe)

Altersgruppe 1-12 J. Gewicht unter 4 g	
Serum	Homog.
59,2	452
59,2	306
46,2	522
71,0	420
27,2	824
162,0	260
20,8	508
39,6	748
39,6	1080
Mittelwerte:	
58,3	520

Altersgruppe 13-20 J. Gewicht unter 4 g	
Serum	Homog.
16,5	2780
50,4	960
63,0	280
20,2	348
28,0	1210
33,5	260
29,6	192
90,8	564
22,4	990
Mittelwerte:	
39,3	620

Altersgruppe 21-40 J. Gewicht unter 4 g	
Serum	Homog.
25,4	1240
74,8	636
24,4	2054
10,0	1926
18,0	270
32,0	848
19,4	640
78,6	1728
16,4	242
Mittelwerte:	
33,0	1062

Altersgruppe 1-12 J. Gewicht über 4 g	
Serum	Homog.
57,2	426
34,4	1112
45,8	2010
45,8	202
42,0	268
40,3	130
Mittelwerte:	
44,2	694

Altersgruppe 13-20 J. Gewicht über 4 g	
Serum	Homog.
60,6	1530
44,8	1372
71,7	340
91,4	200
31,5	708
90,8	590
23,4	191
24,0	340
24,0	310
36,4	508
36,4	344
49,4	658
Mittelwert:	
48,7	590

Altersgruppe 21-40 J. Gewicht über 4 g	
Serum	Homog.
31,4	1738
56,0	1408
88,6	610
35,0	1540
25,2	446
17,6	303
Mittelwerte:	
42,6	1007

Tabelle IV (Fortsetzung)

Altersgruppe über 40 J.
Gewicht unter 4 g

Serum	Homog.
38,0	1220
37,5	1100
40,2	234
13,0	594
30,6	1660
14,1	1000
Mittelwerte:	
28,9	968

Tumoren

Serum	Homog.
17,2	780
20,4	494
101,2	124
Mittelwerte:	
46,2	466

Altersgruppe über 40 J.
Gewicht über 4 g

Serum	Homog.
16,6	1170
25,0	1726
21,4	1030
Mittelwerte:	
20,6	1030

Akut entzündete Tonsillen

Serum	Homog.
25,6	1710
29,9	1920
35,3	3018
Mittelwerte:	
30,7	2216

In Tabelle V sind die Mittelwerte der alkalischen Phosphatase der einzelnen Gruppen mit ihren maximalen Abweichungen zusammengestellt.

Tabelle V

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 4 g	58,3	520	+ 103,7 - 35,5	+ 560 - 260
1-12 Jahre Gewicht über 4 g	44,2	694	+ 13 - 9,8	+ 518 - 564
13-20 Jahre Gewicht unter 4 g	39,3	620	+ 5,5 - 22,8	+ 2160 - 408
21-40 Jahre Gewicht unter 4 g	32,0	1062	+ 42,8 - 22	+ 978 - 317
21-40 Jahre Gewicht über 4 g	42,6	1007	+ 46 - 25	+ 731 - 705
über 40 Jahre Gewicht unter 4 g	28,9	968	+ 9,1 - 15,9	+ 692 - 734
über 40 Jahre Gewicht über 4 g	20,6	1030	+ 4,4 - 4	+ 696 - 0
Tumoren	46,2	466	+ 55 - 29	+ 314 - 342
Akut entzündete Tonsillen	30,7	2216	+ 4,6 - 0,8	+ 802 - 506

B) Versuche an Rachenmandeln

Diese Gruppe umfaßt 30 Versuche, die in zwei größere Gruppen- nämlich Rachenmandeln von Personen unter 12 J. und solche von Personen über 12 J.- aufgeteilt wurde. In beiden Gruppen teilten wir Versuche mit Mandeln über 1,5 g und unter 1,5 g voneinander.

Die für die sauren Phosphatase gewonnenen Ergebnisse zeigen die Tabellen VI und VI a.

Tabelle VI

	Versuch Nr.	Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.
Altersgruppe 1-12 Jahre									
Gewicht bis 1,5 g	67	17,9	2690	15,1	2320	12,1	1306	11,0	748
	68	15,2	3245	13,0	2682	9,9	1642	8,2	1085
	69	21,2	3086	17,7	2610	11,4	1532	10,1	996
	70	8,7	3360	7,6	2679	7,1	1905	5,5	1088
	71	7,1	3080	5,8	2800	4,9	1608	3,9	1141
	72	15,9	2780	13,7	2348	7,9	1387	7,7	766
	73	17,7	3130	17,1	2880	12,7	1805	11,6	1262
	74	5,6	2860	4,7	2501	1,8	1380	1,0	767
	75	16,7	2052	15,7	1804	11,0	1141	10,6	488
	76	17,5	3180	11,6	2930	8,5	1700	6,5	1172
	77	17,7	2438	15,6	2240	10,2	1721	10,1	990
Mittelwerte:		14,6	2900	12,5	2526	8,9	1562	7,8	995
Altersgruppe 1-12 Jahre									
Gewicht über 1,5 g	78	11,8	2428	10,2	2085	8,3	1200	6,9	780
	79	17,6	2880	16,7	2538	13,9	1520	12,1	787
	80	15,8	2300	12,1	1761	11,2	1351	10,0	829
	81	16,0	2680	13,6	2232	12,6	1350	9,6	865
	82	10,7	3239	7,2	3058	3,2	1549	2,9	940
	83	9,4	3220	7,2	3058	3,2	1549	2,1	895
	84	28,3	2762	24,7	2463	16,0	1980	14,3	790
Mittelwerte:		15,6	2778	13,5	2445	9,8	1513	7,9	840
Altersgruppe über 12 Jahre									
Gewicht unter 1,5 g	85	11,5	3240	10,0	2860	6,8	1639	5,0	900
	86	10,1	3008	8,8	2762	6,0	1509	3,7	850
	87	13,4	3099	11,9	2869	5,8	1784	1,3	796
	88	13,9	2846	13,3	2502	7,9	1348	6,8	880
	89	8,8	3420	8,7	3240	5,1	1709	5,0	971
Mittelwerte:		11,5	3160	10,3	2844	6,3	1597	4,3	879

Tabelle VI (Fortsetzung)

	Versuch Nr.	Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.
Altersgruppe über 12 Jahre Gewicht über 1,5 g	90	9,6	2462	8,7	2278	5,7	1172	4,2	780
	91	10,5	2218	9,7	1718	7,9	1098	6,2	750
	92	12,6	2860	5,1	2468	3,5	1533	3,0	900
	93	19,1	2960	13,7	2680	8,5	1320	7,0	1170
	94	8,0	2830	6,8	2479	4,6	1400	3,6	739
	95	5,0	3140	3,3	2920	2,2	1549	0,5	875
	96	13,2	2999	14,7	2740	10,4	1610	7,7	1048
Mittelwerte:		11,1	2781	8,8	2520	6,1	1384	4,6	894

Tabelle VI a

Zusammenfassung der Mittelwerte aus den Bestimmungen der sauren Phosphatase in Rachenmandeln:
Mittelwerte der sauren Gesamtphosphatase.

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 1,5g	14,6	2900	+ 6,6 - 9,0	+ 460 - 848
1-12 Jahre Gewicht über 1,5 g	15,6	2778	+ 12,7 - 6,2	+ 461 - 478
über 12 Jahre Gewicht unter 1,5g	11,5	3160	+ 2,4 - 2,7	+ 260 - 314
über 12 Jahre Gewicht über 1,5 g	11,1	2781	+ 8,0 - 6,1	+ 359 - 563

Mittelwerte der Reihe mit Tartrathemmung.

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 1,5g	12,5	2526	+ 5,2 - 7,8	+ 404 - 722
1-12 Jahre Gewicht über 1,5 g	13,5	2445	+ 11,2 - 6,3	+ 613 - 684
über 12 Jahre Gewicht unter 1,5g	10,3	2844	+ 3,0 - 2,5	+ 396 - 342
über 12 Jahre Gewicht über 1,5 g	8,8	2520	+ 5,9 - 5,5	+ 400 - 740

Tabelle VI a (Fortsetzung)

Mittelwerte der Reihe mit Formaldehydhemmung.

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 1,5g	8,9	1562	+ 3,8 - 7,1	+ 343 - 421
1-12 Jahre Gewicht über 1,5 g	9,8	1513	+ 6,2 - 6,6	+ 485 - 313
über 12 Jahre Gewicht unter 1,5g	6,3	1597	+ 1,6 - 1,2	+ 187 - 249
über 12 Jahre Gewicht über 1,5 g	6,1	1384	+ 4,3 - 3,9	+ 226 - 286

Mittelwerte der mit Formaldehyd und Tartrat behandelten Reihe:

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 1,5g	7,8	955	+ 3,8 - 6,8	+ 307 - 467
1-12 Jahre Gewicht über 1,5 g	7,9	840	+ 6,4 - 5,8	+ 100 - 60
über 12 Jahre Gewicht unter 1,5g	4,3	879	+ 2,5 - 3,0	+ 92 - 93
über 12 Jahre Gewicht über 1,5 g	4,6	894	+ 3,1 - 4,1	+ 276 - 144

Tabelle VII

Bestimmung der alkalischen Phosphatase in Rachenmandeln
(Einheit: mU/ml Serum bezw. mU/g Gewebe)

Altersgruppe 1-12 J.
Gewicht unter 1,5 g

Serum	Homog.
123,0	866
75,0	2170
93,0	540
43,0	3940
54,6	2980
59,2	2120
70,6	3748
27,2	824
71,0	1044
59,2	2096
69,0	2340
Mittelwerte:	
65,0	2060

Altersgruppe 1-12 J.
Gewicht über 1,5 g

Serum	Homog.
120,4	1390
71,8	358
75,0	372
45,2	130
39,6	680
162,0	836
Mittelwerte:	
79,9	651

Altersgruppe über 12 J.
Gewicht unter 1,5 g

Serum	Homog.
84,4	1240
72,4	936
50,4	538
91,4	372
44,8	1372
Mittelwerte:	
71,0	892

Altersgruppe über 12 J.
Gewicht über 1,5 g

Serum	Homog.
29,4	2422
49,0	658
12,8	2836
36,4	2032
23,4	1910
31,5	1340
44,4	3504
Mittelwerte:	
32,2	2100

Tabelle VIII

Mittelwerte der alkalischen Phosphatase bei den einzelnen Rachenmandelgruppen (Einheit mU/ml Serum bezw. mU/g Gewebe).

Altersgruppe	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
1-12 Jahre Gewicht unter 1,5g	65,0	2060	+ 58,2 - 37,8	+ 1880 - 1520
1-12 Jahre Gewicht über 1,5 g	79,9	651	+ 82,1 - 40,3	+ 768 - 521
über 12 Jahre Gewicht unter 1,5g	71,0	892	+ 20,4 - 26,2	+ 480 - 620
über 12 Jahre Gewicht über 1,5 g	32,2	2100	+ 12,2 - 19,4	+ 1404 - 1432

C) Die Halslymphknoten

Insgesamt wurden 10 Halslymphknoten untersucht. Neben 4 normalen umfaßt diese Gruppe noch 6 histologisch veränderte Halslymphknoten. Bei den histologisch veränderten handelte es sich einmal um Tuberkulose und 5mal um Tumormetastasen. Ausgangspunkt der Metastasen waren 1 Adenokarzinom und 4 Plattenepithel-Karzinome, sämtlich im Kopf-Halsgebiet lokalisiert.

Tabelle IX

Saure Phosphatase in Halslymphknoten (mU/ml bezw. mU/g Gewebe)

	Versuch Nr.	Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.
Normale Halslymphknoten	97	7,6	2700	5,2	2342	2,9	1350	1,5	626
	98	8,8	2526	4,4	2248	2,4	902	1,7	532
	99	7,0	3119	5,8	2519	5,0	1729	3,0	825
	100	8,0	2810	6,3	2342	3,6	1450	2,8	725
Mittelwerte:		7,8	2788	5,4	2362	3,5	1357	2,2	689

Tabelle IX (Fortsetzung)

	Versuch Nr.	Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen		Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt.		Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.		Prostata- u. Erythrozytenphosphatase gehemmt.	
		Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.	Ser.	Homog.
Histologisch veränderte Halslymphknoten	101	18,2	2492	5,5	1915	4,9	1680	4,0	920
	102	10,1	2168	8,9	1689	4,3	778	3,2	606
	103	10,3	2260	8,8	1660	5,5	1220	4,6	562
	104	4,6	1718	3,2	1510	2,5	772	2,1	660
	105	15,7	2341	8,8	1862	4,4	1202	3,0	726
Mittelwerte:		11,8	2196	7,0	1727	4,3	1130	3,4	695
Tuberkulose	106	31,4	2299	28,3	1715	23,1	985	21,2	460

101: Adenokarzinom
102: Metastase eines Plattenepithelkarzinoms
103: Metastase eines verhornenden Plattenepithelkarzinoms
104: Metastase eines Plattenepithelkarzinoms
105: Metastase eines Plattenepithelkarzinoms

Tabelle X

Zusammenstellung der Mittelwerte der sauren Phosphatase in Halslymphknoten mit den maximalen Abweichungen der Einzelwerte (mU/ml Serum bezw. mU/g Gewebe).

Saure Gesamtphosphatase

Gruppe:	Mittelwerte		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
Normale Halslymphknoten	7,8	2788	+ 1,0 - 0,8	+ 331 - 262
Histologisch veränderte Halslymphknoten (Tumoren)	11,8	2196	+ 6,4 - 7,2	+ 296 - 478

Prostataphosphatase mit Tartrat gehemmt

Gruppe	Mittelwerte:		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
Normale Halslymphknoten	5,4	2362	+ 0,9 - 1,0	+ 157 - 140
Histologisch veränderte Halslymphknoten	7,0	1727	+ 1,9 - 3,8	+ 188 - 217

Erythrozytenphosphatase mit Formaldehyd gehemmt.

Gruppe	Mittelwerte:		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
Normale Halslymphknoten	3,5	1357	+ 1,5 - 1,1	+ 472 - 455
Histologisch veränderte Halslymphknoten	4,3	1130	+ 1,2 - 1,8	+ 550 - 352

Erythrozyten- und Prostataphosphatase mit Formaldehyd und Tartrat gehemmt.

Gruppe	Mittelwerte:		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
Normale Halslymphknoten	2,2	689	+ 0,8 - 0,7	+ 136 - 157
Histologisch veränderte Halslymphknoten	3,4	695	+ 1,4 - 1,3	+ 225 - 133

Tabelle XI

Alkalische Phosphatase in Halslymphknoten und den zugehörigen Blutseren (mU/ml Serum bezw. mU/g Gewebe)

Gruppe:	Serum	Homog.	
Normale Halslymphknoten	15,0	1004	
	13,0	1032	
	22,2	844	
	18,4	994	
Mittelwerte:	17,1	968	
Histologisch veränderte Halslymphknoten	23,2	530	(Adenokarzinom)
	17,2	660	(Metastase eines Plattenepithelkarzinoms)
	61,5	1040	(Metastase eines verhornenden Plattenepithelkarzinoms)
	30,6	790	(Metastase eines Plattenepithelkarzinoms)
	76,0	838	(Metastase eines Plattenepithelkarzinoms)
Mittelwerte:	41,7	771	
Tuberkulose	29,0	752	

Tabelle XII

Mittelwerte der alkalischen Phosphatase an Halslymphknoten.

Gruppe	Mittelwerte:		Stärkste Abweichung	
	Serum	Homog.	Serum	Homog.
Normale Halslymphknoten	17,1	968	+ 4,9 - 2,1	+ 36 - 124
Histologisch veränderte Halslymphknoten (Tumoren)	41,7	771	+ 34,3 - 24,5	+ 241 - 269

D. Untersuchungen der alkalischen Phosphataseaktivität mit einem kinetischen Test.

Während unsere Untersuchungsserie lief, wurde von der Fa. Merck AG ein kinetischer Test zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase-Aktivität eingeführt. Wir haben diese Möglichkeit aufgegriffen und bei insgesamt 22 Versuchen kinetischen Test und Farbtest vergleichend durchgeführt, und zwar sowohl aus dem jeweiligen Serum als auch dem jeweiligen Homogenat.

Tabelle XIII

Vergleich zwischen der kinetischen und der Farbtest-Methode aus Gaumenmandeln.

Versuch-Nr.	Serum		Homogenat	
	Farbtest	kinet. Test	Farbtest	kinet. Test
1	78,8	327,6	2220,0	119,0
2	20,1	82,0	1408	779,5
3	37,8	163,8	250,0	676,0
4	23,0	92,9	252,0	728,5
5	49,2	193,5	1250,0	2280
6	14,2	65,6	464,0	858,0
7	95,4	316,6	1290,0	850,0
8	52,5	234,5	234,0	580,0
9	45,9	234,5	356,0	1550,2
10	61,0	310,9	120,0	750,0
11	60,0	310,9	344,0	2022,0
12	58,9	338,0	1652,0	762,0
13	57,0	336,0	3136	1700
14	64,0	272,8	290	1110
15	62,3	208,0	1204	1288
16	60,6	214,2	1372	1699
17	52,6	191	640	1440
18	48,9	198	664,0	1438
19	92	381,2	520,0	1316
20	89	369,8	526,0	1135
21	79,2	301,0	550,0	1108
22	72,3	289,4	810,0	2210
Mittelwerte:	59	247,4	887,0	1249

Auffallend erscheint bei diesen Ergebnissen, daß nicht bei allen Versuchen die mit dem kinetischen Test ermittelten Aktivitäten höher liegen als die Werte des Farbtests. Bei den Untersuchungen von Gewebshomogenaten, und zwar ausschließlich bei diesen, ergab sich in 5 von 22 Versuchen ein deutlich niedrigerer Wert des kinetischen Tests. Wir können uns diese Tatsache nur so erklären, daß der kinetische Test aus bisher nicht klaren Gründen die Enzymaktivität im Gewebe gelegentlich nicht voll erfaßt (pH-Verschiebung?). Für Gewebeuntersuchungen scheint also der Farbtest bisher noch der zuverlässigere zu sein.

Anhang

Bei einigen Versuchsgruppen haben wir zur Beurteilung, inwieweit der Unterschied zweier Mittelwerte M und M' zweier getrennter Meßreihen zufällig oder aber signifikant ist, den t-Test durchgeführt. Signigikanz liegt vor, wenn die Wahrscheinlichkeit zufälliger Abweichung P kleiner ist als 5%.
Vergleich von:

I. saure Phosphatase:

Gaumenmandeln bei 21-40 Jährigen. Vergleich der Gruppen mit Gewicht unter 4 g und über 4 g.

a) Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen	nicht signifikant
b) Reihe mit Tartrathemmung	nicht signifikant
c) Reihe mit Formaldehydhemmung	nicht signifikant
d) Reihe mit Formaldehyd- und Tartrathemmung	nicht signifikant

Halslymphknoten, normale mit Tumoren.

a) Gesamtgehalt an sauren Phosphatasen	$P < 5\%$
b) Reihe mit Tartrathemmung	$P < 1\%$
c) Reihe mit Formaldehydhemmung	nicht signifikant
d) Reihe mit Formaldehyd- und Tartrathemmung	nicht signifikant

II. Alkalische Phosphatase

Gaumenmandeln bei 21-40 Jährigen mit akut entzündlichen Gaumenmandeln.	$P < 5\%$
Gaumenmandeln der 13-20 Jährigen mit Gaumenmandeln der Altersgruppe 21-40 (unter 4 g)	nicht signifikant
Gaumenmandeln der 13-20 Jährigen mit Gaumenmandeln der Altersgruppe 21-40 (über 4 g)	nicht signifikant
Rachenmandeln der Altersgruppe 1-12.: Hyperplastische mit nicht hyperplastischen	$P < 1\%$
Rachenmandeln der Altersgruppe über 12 J. Hyperplastische mit nicht hyperplastischen	$P < 1\%$
Halslymphknoten: Normale mit Tumoren	$P < 5\%$

Diskussion der Versuchsergebnisse

1.)

Unsere photometrischen Analysen des Gehaltes von Gaumen- und Rachenmandeln sowie Halslymphknoten des Menschen an alkalischer und saurer Phosphatase haben in allen diesen lymphatischen Organen beträchtliche Aktivitäten der beiden unspezifischen Phosphomonoesterasen ergeben. Die Enzymaktivitäten lagen in Tonsillen und Lymphknoten nicht nur jeweils in der gleichen Größenordnung, sie waren sogar praktisch gleich hoch.

Man könnte, entsprechend dem eingangs Gesagten, diesen Befund als Argument gegen eine Sonderfunktion der Tonsillen, speziell der Gaumenmandeln, heranziehen. Die meisten Forscher verneinen ja z. Zt. eine solche Sonderfunktion und schreiben den Tonsillen nur die Aufgaben des übrigen lymphatischen Systems zu, nämlich Zellbildung (Lymphozyten) und immunbiologische Vorgänge (FALK).

Auffallenderweise lagen die Aktivitäten der sauren Phosphatase bei unseren Versuchen fast durchweg höher als die der alkalischen Phosphatase. Nach den bisher vorliegenden histochemischen Befunden hätte man eher das Gegenteil vermuten können. Die Interpretation dieses Befundes erscheint nicht einfach. Ein gröberer methodischer Fehler dürfte ausscheiden. Es ist natürlich klar, daß man zu Vergleichszwecken des Gewebsgehaltes an saurer Phosphatase nicht den Gesamtwert, sondern die nach Zugabe von Formaldehyd verbliebene Enzymaktivität heranziehen muß. Durch komplette Hemmung der Erythrozytenphosphatase ist bei diesen Werten der Anteil des strömenden Blutes an der Gesamtaktivität bereits eliminiert. Auch die Formolwerte liegen noch deutlich höher als die der alkalischen Gesamtphosphatase. Letztere schließt (nicht eliminierbar) die Enzymaktivität extra- und intravasaler Granulozyten mit ein.

Erst wenn man den im Prinzip nicht erlaubten Vergleich des Formolwertes an saurer Phosphatase einerseits und der mit dem kinetischen Test erhaltenen höheren Werte an alkalischer Phosphatase andererseits anstellt, kommt man auf etwa das gleiche Niveau.

Wir können heute noch nicht erklären, warum die saure Phosphataseaktivität im lymphatischen Gewebe so relativ groß ist. Aus der Prostata beim Manne scheint nur höchstens 1/8 der Gesamtmenge zu stammen. (s. die Werte mit Tartrathemmung). Dieses Verhältnis entspricht etwa dem im Blutserum.

Wenn wir also die Ursache des hohen Phosphatasegehaltes in Tonsille und Lymphknoten (saure Ptase) nicht kennen, so könnte dieser Gehalt andererseits doch ein merkwürdiges Verhalten des Tonsillenbindegewebes erklären, nämlich dessen häufige knorpelige und knöcherne Metaplasie. Solche Metaplasien sind besonders bei der Hyperkeratosis pharyngis SIEBENMANN sowie bei Vernarbungszuständen nach einschmelzender Entzündung bekannt (Tuberkulose, GANZ). Die Bedeutung der sauren Phosphatase für die Ossifikation ist ja unumstritten (BURSTONE). GANZ hat bei einem sonst völlig gesunden jungen Mann mit Hyperkeratosis pharyngis und derartigen Metaplasien sogar eine vorübergehende Erhöhung der saueren Serumphosphatase gefunden, die nach der Tonsillektomie abklang.

2.)

Von verschiedenen Autoren ist eine zeitliche Begrenzung der immunbiologischen Aktivität der Tonsillen auf Kindheit und Jugend angenommen worden (FIORETTI, GRANDE, MARCUCCI). Da Phosphatasen eigentlich immer dort vermehrt zu finden sind, wo spezifische Gewebsfunktionen vorliegen, könnte man altersabhängige Schwankungen des Enzymgehaltes in den Tonsillen vielleicht mit dieser zeitlichen Funktionsbegrenzung in Zusammenhang bringen.

Bei älteren Leuten abfallende Phosphatasespiegel wurden bei unseren Versuchen jedoch nicht gefunden. Die sauren Phosphatasen lagen in der Gaumenmandel nur in der Gruppe der über 40 Jährigen geringfügig niedriger. GANZ fand bei seinen Untersuchungen des Enzymmusters der Mandeln ein ganz entsprechendes Verhalten vorwiegend der Enzyme der Glycolyse. Er erklärte diesen Befund durch die Zunahme des enzymarmen Bindegewebsanteils der Mandel. Möglicherweise kann auch die Zellneubildungsrate im höheren Alter geringer werden.

Bei der alkalischen Phosphatase fanden wir die Aktivitäten in der Gaumenmandel sogar beim Erwachsenen deutlich höher als beim Kinde und Jugendlichen, wenn sich auch statistische Signifikanz dieser Abweichung wegen der starken Streuung der Einzelwerte nicht nachweisen ließ.

Dieses Phänomen ließe sich recht gut mit der beim Erwachsenen praktisch obligatorischen chronischen Entzündung der Mandeln erklären. Die Wesensmerkmale der chronischen Infektion sind ja (in diesem Alter besonders) quasi "Ausdruck eines "normalen" Zustandes" (ARSLAN). RÖSSLE hat entsprechend einmal formuliert: "Das lymphatische Gewebe ist Organ gewordene Entzündung".

Zur chronischen Entzündung an den Tonsillen gehören zellige Infiltrate und zwar auch von Granulocyten. Der Gehalt dieser Zellen an alkalischer Phosphatase wird den Über-alles-Wert natürlich ansteigen lassen. Leider gibt es bisher keine Möglichkeit, die Leucozytenphosphatase selektiv zu hemmen und so photometrisch zu erfassen (Auskunft der Fa. E. MERCK AG). Wir sind also nicht in der Lage zu zeigen, in welchem Ausmaß unser Gesamtergebnis durch die Granulocyten bestimmt wird, einschließlich der intravasalen, dem strömenden Blut angehörigen Zellen dieses Typs. Den ebenfalls Granulocyten enthaltenden Detritus in den Krypten haben wir so gut wie möglich entfernt.

Eine zweite für uns wichtige Auswirkung der chronischen Entzündung ist die Gefäßproliferation. Sie kann sogar das histologische Bild beherrschen (ARSLAN). Es ist bekannt, daß die Wände besonders der kleinen Blutgefäße des arteriellen Schenkels reichlich alkalische Phosphatase enthalten, auch in den Tonsillen (DRABE und GIRSCHIK, GANZ). Mehr Capillaren: Mehr Phosphatase!

Ein dritter Faktor ist schließlich die Bildung neuer Bindegewebsfasern. LENNERT hat ja im Lymphknoten gezeigt, daß solche Fasern besonders viel alkalische Phosphatase enthalten.

Daß die Entzündung und nicht spezifisch-funktionelle Vorgänge in der Mandel für die Höhe der alkalischen Phosphataseaktivität entscheidend sind, zeigen unsere noch höheren Werte bei akuter Tonsillitis. (Hyperämie, reichlich Granulocyten; P kleiner als 5%).

Bei den Rachenmandeln haben wir für die sauren Phosphatasen keine altersabhängigen Aktivitätsabweichungen finden können. Parallel hierzu fand GANZ in diesem Organ sehr uniforme Enzymmuster aus dem energieliefernden Stoffwechsel. Auch die alkalische Phosphatase verhielt sich bei der Rachenmandel hinsichtlich des Lebensalters recht indifferent. Also wiederum: Kein Hinweis auf eine spezifische Funktion bezw. deren zeitliche Begrenzung!

3.)

Akute Entzündung bewirkt - wie schon gesagt - ein deutliches Ansteigen der alkalischen Phosphatase im Tonsillenhomogenat, nicht aber im Blutserum. Die sauren Phosphatasen machen diese Bewegung nicht mit. Da sich die Differenz zwischen Gesamtwert und Formolwert (Erythrozytenphosphatasehemmung) bei akuter Tonsillitis kaum von der bei chronischer Tonsillitis unterschied, kann eine ins Gewicht fallende Mehrdurchblutung bei unserem akut entzündlichen Material nicht mehr vorgelegen haben. Hauptursache des Aktivitätsanstiegs der alkalischen Phosphatase sind also die granulocytären Infiltrate im Gewebe, nicht die Granulocyten des Blutes.

Wie steht es nun mit der Hyperplasie?

Bei sehr kleinen Kindern sowie bei der Rachenmandel gibt es eine nicht entzündliche Tonsillenhyperplasie, sonst aber sind immer chronisch-entzündliche Vorgänge beteiligt. Eine Befundinterpretation im Hinblick auf die Hyperplasie allein wird also schwierig, wenn nicht unmöglich sein. Betrachten wir zunächst die sauren Phosphatasen der Gaumenmandeln, so sind nur verschwindend geringe Aktivitätsunterschiede zwischen den Tonsillengruppen unter und über 4 Gramm Gewicht zu finden. Auffallenderweise liegen die hyperplastischen Mandeln sogar etwas, aber nicht signifikant, niedriger. Dieses Verhalten geht gleichförmig durch alle untersuchten Altersgruppen.

Auch bei der alkalischen Phosphatase finden sich kaum Unterschiede zwischen hyperplastischen und nicht hyperplastischen Organen.

Diese Befunde stehen wiederum mit den Enzymmustern von GANZ gut in Einklang, denn bei Hyperplasie zeigten sich nur mäßige Aktivitätssteigerungen des energieliefernden Stoffwechsels. Vergleichbare Befunde stammen auch von PERRINO (Steigerung der respiratorischen und glycolytischen Aktivität) und MAGGIO (Erhöhung der ATP-ase).

Unsere Phosphatasewerte widersprechen nicht, wie man zunächst glauben möchte, der Vorstellung, die Tonsillenhyperplasie sei - zumindest im Kindesalter - Ausdruck einer gesteigerten Abwehrleistung des Organs (Lymphozytenproduktion, allgemeine immunbiologische Vorgänge). Wir haben ja die Enzymaktivität pro Gramm Gewebs-Frischgewicht berechnet. Eine hyperplastische Tonsille von 6 Gramm Gewicht hätte somit - bei gleichen Aktivitäten in der Gewichtseinheit - insgesamt die doppelte Enzymmenge einzusetzen wie eine Mandel von 3 Gramm!

Bei der Rachenmandel liegen die sauren Phosphatasen in den stärker hyperplastischen Fällen sogar geringfügig niedriger als bei kleineren Organen.

Auffällig und zunächst nicht klar deutbar verhielt sich die alkalische Phosphatase in der Rachenmandel. Trennt man nämlich innerhalb der beiden Altersgruppen unter und über 12 Jahren die großen und kleinen Mandeln voneinander, so entstehen deutliche Abweichungen. Bei den unter 12 Jährigen lagen die hyperplastischen Adenoide deutlich niedriger, so daß man an eine kompensatorische Hyperplasie denken konnte, ähnlich der hypothyreoten Struma. Bei den über 12 Jährigen dagegen verhielten sich die Werte praktisch reziprok. (Tabelle VII). Wir können dieses Phänomen zunächst nicht erklären. Jedenfalls wurde versucht, einen Rechenfehler auszuschließen.

4.)

Quantitative Beziehungen zwischen Phosphatasegehalt von Tonsillen und zugehörigem Blutserum fanden sich erwartungsgemäß nicht. Auch bei akuter Tonsillitis war kein Serumanstieg der alkalischen Phosphatase feststellbar. Desgleichen blieb bei Tonsillentumoren der Serumwert der sauren Phosphatase normal, während das alkalische Enzym ausgerechnet bei einem Malignom mit besonders niedrigem Homogenatwert erhöht war (Tabelle IV). Sogar bei Malignomen mit Lymphknotenmetastasen blieben die Serumwerte von alkalischer und saurer Phosphatase im Normbereich. Die Serumspiegel der unspezifischen Phosphomonoesterasen haben also bisher keine Bedeutung für die Tonsillendiagnostik.

Das gleiche gilt für Phosphatasebestimmungen aus der Mandelbiopsie, denn wir haben ja bisher kein Krankheitsbild gefunden, das sich durch besonders hohe bezw. niedrige Gewebsspiegel dieser Enzyme auszeichnete, abgesehen von der akuten Tonsillitis, die der biochemischen Diagnostik nicht bedarf.

Eine Entscheidung der wichtigen Frage, ob eine Tonsille nur hyperplastisch oder auch in klinisch wesentlichem Ausmaße chronisch entzündet ist (Focusfrage!), läßt sich nach unseren Ergebnissen mit der Phosphatasebestimmung aus dem Gewebe ebenfalls nicht herbeiführen. PARADISI ist hier allerdings aufgrund seiner histochemischen Befunde anderer Ansicht.

Eine kurze Besprechung erfordert noch das Problem der Phosphatase-Untergruppen.

Durch die vier verschiedenen Ansätze zur Bestimmung der sauren Phosphatase hofften wir, die drei bekannten Komponenten gut trennen zu können, nämlich

Typ II (Prostata-Phosphatase): Aktivität = Differenz aus Gesamtwert und Tartratwert,
Typ III (Leber/Milz-Enzym): Aktivität = Wert nach gleichzeitiger Formol/Tartratzugabe,
Typ IV (Erythrozytenphosphatase): Aktivität = Differenz aus Gesamtwert und Formolwert.

Der Anteil des aus der Prostata stammenden Enzyms im Tonsillengewebe entspricht nach unseren Messungen etwa dem im Blutserum (ca. 1/8).

Auffallend ist, daß nach Hemmung des Typs II und IV noch deutliche Restaktivität im Gewebshomogenat nachweisbar war (ca. 1/4 der Gesamtaktivität). Dieser Rest müßte eigentlich dem bisher in geringen Mengen in Leber und Milz, sonst aber vorwiegend bei niedrigeren Pflanzen nachgewiesenen Typ III-Enzym entsprechen (s. bei DEANE, BARRNETT und SELIGMAN).

Auffällig ist weiterhin der durchweg starke Abfall des Formolwertes gegenüber dem Gesamtwert (meist auf etwa die Hälfte). Nach SAPIGNI und VALLINI enthält 1 g Tonsillenfrischgewebe durchschnittlich nur etwa 0,0008 ml Blut, eine verschwindend kleine Menge. Unsere Werte lassen also einen ungeheuer hohen Gehalt der Erythrozyten an saurer Phosphatase vermuten, will man nicht annehmen, daß der Formaldehyd andere Phosphatasen eben teilweise mit hemmt!

Bei einer Überschlagsrechnung käme man nämlich auf 1.750.000 mU pro ml Blut bezw. eine ganze Millieinheit saurer Phosphatase auf einen einzigen Erythrozyten!

Die tatsächlichen Gewebsspiegel müssen also dem von uns gemessenen Gesamtwert wesentlich näher kommen als dem Formolwert.

Daß eine gewisse Mithemmung der anderen sauren Phosphatasen im Spiel sein muß, ergibt sich auch daraus, daß selbst bei völlig einwandfreien Blutseren (keinerlei Hämolyse) der Formolwert um 1/3 bis 1/2, gelegentlich sogar noch stärker unter dem Gesamtwert lag.

Leider gelang es uns nicht, den Gehalt des Vollblutes bezw. einer mehrfach gewaschenen Erythrozytensuspension an saurer Phosphatase direkt zu messen, und zwar weder bei Zerstörung der zelligen Elemente mit aqua bidest., noch bei Homogenisation mittels des Ultra-Turrax. Die Leerwerte lagen jeweils sehr hoch, wohl bedingt durch ein im Meßbereich liegendes Absorptionsmaximum des Hämoglobins, aber darüber hinaus waren keinerlei Enzymaktivitäten faßbar.

Auch bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase geht ein Unsicherheitsfaktor in den Gesamtwert des Homogenates ein, nämlich der Gehalt an intravasalen Granulozyten. Unsere Bestimmungen des Enzyms aus dem Vollblut ergaben jedoch nur eine geringe Aktivitätserhöhung gegenüber dem Serum (um ca. 1/4). Man kann die Granulozyten des Blutes - bei nur 0,0008 ml Blut pro Gramm Gewebe - also bei der Interpretation der Phosphatasewerte im Tonsillenhomogenat praktisch vernachlässigen.

Zusammenfassung

Gaumen- und Rachenmandeln sowie auch Halslymphknoten vom Menschen enthalten relativ hohe Aktivitäten an unspezifischen Phosphomonoesterasen. Die sauren Phosphatasen liegen dabei deutlich höher als die alkalische. Wir kennen die Ursache für den hohen Gehalt des lymphatischen Gewebes an Phosphomonoesterasen nicht. Durch Phosphataseaktivität könnte sich jedoch die auffallende Neigung des Tonsillenbindegewebes zur knöchernen Metaplasie erklären.

Die Phosphatasespiegel unterliegen keinen wesentlichen und statistisch signifikanten altersbedingten Schwankungen. Sie geben damit keinen Hinweis darauf, daß spezifische Funktionen der untersuchten Organe zeitlich begrenzt wären. Die geringfügig höheren Werte an alkalischer Phosphatase in der Gaumenmandel des Erwachsenen gegenüber dem Kindesalter dürften Ausdruck der praktisch obligatorischen chronischen Entzündung sein (granulocytäre Infiltrate, Capillarvermehrung, Faserneubildung).

Akut entzündete Tonsillen zeigen einen deutlichen, statistisch signifikanten Anstieg der alkalischen Phosphatase, entsprechend der Zunahme der Granulocyten. Die sauren Phosphatasen steigen dagegen nicht an.

In hyperplastischen und nicht hyperplastischen Gaumenmandeln ist der Gehalt an Phosphatasen praktisch gleich hoch, während sich bei der Rachenmandel für die alkalische Phosphatase deutliche Unterschiede ergeben.

Die Höhe der Phosphataseaktivität im Blutserum läßt keinerlei Rückschlüsse auf den Zustand der Tonsillen zu, hat also keine Bedeutung für die Tonsillendiagnostik.

Da wir bisher einschließlich der Tumoren kein Krankheitsbild kennen, mit Ausnahme der akuten Entzündung, das durch einen auffallend hohen oder niedrigen Gewebsgehalt an Phosphatase gekennzeichnet wäre, sind durch Enzymbestimmungen aus der Gewebsbiopsie ebenfalls keine diagnostischen Aufschlüsse zu erhoffen.

Literaturverzeichnis

ACKERMANN, G.A., R.A., KNOUFF, H.A., HOSTER:
Cytochemistry and morphology of neoplastic and nonneoplastic human lymph node cells with special reference to Hodgkin's disease.
J. nat. Cancer Inst. 12, 465 - 489 (1951)

ANDERSCH, M. A. und A. J. SZCTPINSKI:
Americ. J. clin. Pathol. 17, 571 (1947)

ARSLAN, M. Die tonsillogene Focalinfektion
In: FIORETTI, die Gaumenmandel.

BERGMAYER, H.U. Methoden der enzymatischen Analyse
Chemie GmbH. Weinheim (1962)

BESSEY, O.A., LOWRY, O.H. M.J. BROCK:
J. biol. Chemistry 164, 321 (1946)

BOENNINGHAUS, H. Die histochemische Darstellung der alkalischen Phosphatase in der Gaumenmandel
Inaugural Dissertation, Marburg (1951)

BRAUNSTEIN, H., D.G. FREIMANN, E.A. GALL
A histochemical study of the enzymatic activity of lymph nodes.
Cancer (Philad.) 11, 829 - 837 (1958)

BRIEGER, O.: Beiträge zur Pathologie der Rachenmandel.
Zur Genese der Rachenmandelhyperplasie.
Arch. Laryug. Plein. (Berlin) 12, 254 (1902)

BURSTONE, M.S. Acid phosphatase activity of calcifying bone and dentin matrices.
J. Histochem. Cytochem. 7, 147 (1959)

CELESTINO, D., A. DI GIROLAMO: Sul compartamento delle fosfatasi nel tessuto tonsillare umano studio istochimico.
Il Valsalva, Vol 37, fasc. 1 (1961)

COPPO, L., A. DI GIROLAMO e E. DI LEVA:
Attivita fosfatasica del tessuto tonsillare umano.
Il Valsalva, 34, 4, 175 (1958)

DEANE, H.W., R.J. BARRNETT, A.M. SELIGMAN:
Handb. Histochemie VII/1, Enzyme I. Histochemische Methoden zum Nachweis der Enzymaktivität.
G. Fischer, Stuttgart (1960)

DEL BO, M., GANDOLFI, M., Sulla distribuzione della attivita fosfomonoesterasica alcalina nei linfonodi normali e nelle linfoadeniti croniche aspecifiche umane.
Edizione Minerva Medica (1959)

DEL BO, M., GANDOLFI, M., Sulla distribuzione della attivita fosfomonoesterasica alcalina in neoplasie epiteliali maligne laringee e nelle loro metastasi linfonodali.
Edizione Minerva Medica (1959)

DRABE, J. u. L. GIRSCHIK: Zur Blutgefäßdarstellung in der menschlichen Gaumenmandel.
Z. Laryngol. Rhinol. 42, 573 (1963)

FALK, P. Entwicklungsgeschichte, Anatomie, Mißbildungen, Physiologie und Patophysiologie des Rachens (einschließlich Tonsillen).
In: Hals- Nasen- Ohrenheilkunde, kurzgef. Handbuch. hersg. von BERENDES/LINK/ZÖLLNER
Bd. II/1 Mund- Rachen- Speiseröhre.
G. Thieme, Stuttgart (1963)

FIORETTI, A. Die Gaumenmandel
G. Thieme, Stuttgart (1961)

FISHMAN, W.H. F. LERNER:
J. Biol. Chem. 200, 89 (1953)

GANZ, H. Enzymmuster von Tonsillen und Halslymphknoten des Menschen unter normalen und pathologischen Bedingungen.
Wiss. Z. Karl Marx-Univ. Leipzig (1968) im Druck

GANZ, H. Zur Biochemie der Hyperkeratosis lacunaris.
Arch. Ohr.-Nas.-und Kehlkopfheilkunde, 185, 809 (1965)

GANZ, H. Histochemische Untersuchungen zum Nachweis der alkalischen Phosphatase in der Rachenmandel und Gaumenmandel.
Z. Hals.-Nas.-Ohrenheilkunde, 177, 467-478 (1961)

GÖRKE, M.: Beiträge zur Pathologie der Rachenmandel.
Kritisches zur Physiologie der Tonsillen.
Arch. Laryng. Rhin. (Berlin) 19, 244 (1907)

GRANDE, F. Metabolismo dei carboidrati nella tonsilla umana normale e patologica.
Arch. ital. Laring. 71, 231 (1963)

HUGGINS, C. P. TALALAY:
J. biol. Chemistry 159, 399 (1945)

KING, E.J. ARMSTRONG, M. D.
Canad. med. Assoc. J. 31, 376 (1934)

LENNERT, K., H. LÖFFLER u. L.D. LEDER. Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens I. Mitteilung Virch. Arch. path. Anat., 334, 399 - 418 (1961)

LENNERT, K., H. LÖFFLER u. F. GRABNER. Esterase in Schnitt und Ausstrich.
IV. Mitteilung Virch. Arch. path. Anat., 335, 491 - 512 (1962)

LENNERT, K. u. H. RINNEBERG. Fermenthistochemische Untersuchungen des Lymphknotens
Klin. Wochenschr. 39, 17, 923 - 924 (1961)

LEUTHARDT, F. Lehrbuch der physiologischen Chemie
Walter d. Gruyter (Berlin) 14. Aufl. (1961)

LINHARDT, K. u. WALTER, K.:
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 289, 245 (1952)

MAGGIO, E. ATP-asi e ATP
Biochim. applicat. 2, 223 (1955)

MARCUCCI, L., D. MARCATO e R. FONTANA
Ricerche sulle proprieta ossido-reduttive del tessuto tonsillare umano in varie condizioni patologiche.
Arch. ital. Otol., 73, 149 (1962)

MARINELLI, P., A. VESCIA. Presenca di fosfatasi nelle tonsille.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 16, 451 (1941)

MEYER ZUM GOTTESBERGE, Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel und Fermentgehalt des Tonsillengewebes.
Z. Hals- Nas.- Ohrenheilk. Bd. 165

MORITZ, V. Über den histochemischen Nachweis alkalischer Phosphatase in menschlichen Lymphknoten
Z. allg. Path. path. Anat., 97, 457-465 (1958)

NAUMANN, H.H.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Frage der Tonsillenfunktion.
zit. nach: Hals- Nasen- Ohrenheilkunde, kurzgef. Handbuch. hersg. von BERENDES/LINK/ ZÖLLNER Bd. II/1 Mund- Rachen- Speiseröhre.
G. Thieme, Stuttgart (1963)

PARADISI, F., G. GALETTI e CAVAZZUTI, F. La tonsilla focale: studio morfologico ed istochimico.
L. Otolar. Ital., 29, IV, 257 (1960)

PERRINO, A. Caratteristiche metaboliche delle tonsille palatine umane normali ed iperplastiche.
Valsalva, 87, 258 (1961)

RICHTERICH, R. Enzympathologie. Enzyme in Klinik und Forschung.
Springer, Stuttgart (1958)

ROBISON zit. nach RICHTERICH, R.: Enzympathologie. Enzyme in Klinik und Forschung.
Springer, Stuttgart (1958)

RÖSSLE, R. zitiert nach ARSLAN

SAPIGNI, T. e R. VALLINI. Indagine su alcune attivita enzimatiche del tessuto linfatico del rino- ed orofaringe.
Ann. Laring. (Torino) 60, 513 (1961)

SCHÄTZLE, W.: Die Hypothesen zur Funktion der Tonsilla palatina - eine Bilanz der Tonsillenphysiologie.
HNO (Berl.) 8, 289 (1960)

STÖHR, P.: Zur Physiologie der Tonsillen.
Biol. Zbl., 2, 368 (1882)

SUZUKI, zit. nach RICHTERICH, R.: Enzympathologie. Enzyme in Klinik und Forschung.
Springer, Stuttgart (1958)

VERZAR zit. nach RICHTERICH, R.: Enzympathologie. Enzyme in Klinik und Forschung.
Springer, Stuttgart (1958)

WACHSTEIN, M. u. G. WOLF: The histochemical demonstration of esterase activity in human blood and bone marrows smears.
J. Histochem. Cytochem. 6, 457 (1958)

Herrn Oberarzt Priv. Doz. Dr. Ganz möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und die aufgewandte Mühe und Zeit danken.

Herrn Prof. Dr. Berendes danke ich für die freundliche Übernahme des Correferates.

L e b e n s l a u f

1939	Am 28. November in Budapest geboren. Eltern: Adolf Schifferer, Kaufmann und Ehefrau Eva. Konfession: Römisch-katholisch.
1945	Ausweisung als Flüchtling nach Deutschland. Seither in Eislingen (Baden-Württemberg) ansässig.
1947 - 1951	Besuch der Volksschule in Eislingen.
1951 - 1960	Besuch des Hohenstaufen-Gymnasium in Göppingen.
1960 Februar	Abitur
1960 SS	Beginn des Medizinstudiums an der Albert-LudwigsUniversität in Freiburg
1961 April	Vorphysikum mit Gesamtnote befriedigend abgelegt. Weitere Studienorte:
1961/62 WS-1963/64 WS	Philipps-Universität Marburg
1963 Oktober	Physikum mit Gesamtnote gut bestanden.
1963/64 WS	Tübingen
1964 SS	Wien
1964/65 WS-1966/67 WS	Philipps-Universität Marburg
1967 März	Staatsexamen mit Gesamtnote gut abgelegt.
1.4.67 - 31.8. 67	Medizinalassistent an der Universitäts-Hals- Nasen- Ohrenklinik in Marburg.
Seit 1.10.67	Fortsetzung der Medizinalassistentenzeit am St. Antonius-Hospital in Eschweiler.

Persönliche Daten:

13.4.66	Eheschliessung: Ehefrau Doris, geb. Rößeler, Medizinalassistentin.
21.6.67	Geburt einer Tochter.

Weitere Ziele: Promotion, Ableistung der Medizinalassistentenzeit, Niederlassung als praktischer Arzt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Freiburg:

Bopp, Brauer, Derwort, Fischer, Fleckenstein, Holzer, Keller, Koehler, Lüdtke, Lüttringhaus, Puff, Rose, Schmidt.

In Marburg:

Ammon, Beckmann, Berendes, Bommer, Braun-Falco, Brück, Buchholz, Bücher, Du Mesnil, Dölle, Exner, Ganz, Gedigk, Golenhofen, Hamm, Heuser, Herrmann, Hildebrandt, Hohorst, Jakob, Klingenberg, Knauff, Lang, Linneweh, Lübbers, Martini, Marx, Neubauer, Niessing, Petry, Rohen, Salfeld, Schiff, Schleyer, Schmid, Schmidt, Schmitz, Schrappe, Schultze, Schwaiger, Siegert, Spiegelberg, Straub, Streicher, Würterle.

In Tübingen:

Betzler, Gohrbrandt, Gross, Jung, Letterer, Lukas, Ott, Rathke, Seybold, Spechter, v. Brunn.

In Wien:

Asperger, Braitenberg, Fellinger, Fuchsig, Hoff, Novotny, Obiditsch-Mayer, Thalhammer.